



فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.jhd.iaushk.ac.ir



اثر ضد باکتریایی، میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره الکی موسیر وحشی (*Allium hirtifolium* Boiss)

الهه آل ابراهیم دهکردی^۱، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۲، محمود رفیعیان کوپایی^{۳*}

۱. کارشناس ارشد گیاهان دارویی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران؛

۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران؛

۳. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ایران؛

*مسئول مکاتبات (E-mail: rafieian@yahoo.com)

چکیده

شناسه مقاله

مقدمه و هدف: موسیر گیاهی متعلق به جنس آلیوم و خانواده آلیاسه می باشد. این گیاه بومی کشور ایران است که به صورت خودرو در نواحی مرتفع و نقاط کوهستانی می روید. با توجه به رویکرد مجدد برای مصرف داروها و فراورده های گیاهی، استفاده از گیاهان دارویی از اهمیت خاصی در درمان و پیشگیری از بیماری ها برخوردار می باشد. این مطالعه با هدف تعیین خواص فیتوشیمیایی و اثرات ضد باکتریایی این گیاه انجام پذیرفت.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۱۰

نوع مقاله: علمی - پژوهشی

موضوع: گیاهان دارویی

روش تحقیق: در این مطالعه، عصاره گیاهان به روش ماسراسیون تهیه و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با روش فولین سیکالچو و کلرید آلومینیوم تعیین گردید. برای تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی از روش DPPH و جهت بررسی اثر ضد باکتریایی از روش برات ماکرودایلوشن استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت.

✓ کلید واژگان:

✓ اثر ضدباکتریایی

✓ *Allium hirtifolium*

✓ ترکیبات فنولی

✓ عملکرد آنتی اکسیدانی

نتایج و بحث: یافته های این مطالعه نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی، فلاونولی و فلاونوئیدی در هر گرم عصاره ی خشک به ترتیب با مقدار ۱۳۵/۵، ۹/۵۹ و ۰/۷۷ میلی گرم مربوط به برگ موسیر می باشد. همچنین نتایج اثر ضد میکروبی این تحقیق نشان داد که عصاره ی برگ و پیاز موسیر بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اسیتوباکتر بومانی* اثر مهارکنندگی و کشندگی قابل قبولی دارند. کمترین غلظت کشندگی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر در عصاره ی الکی برگ و پیاز موسیر مشاهده شد. همچنین بهترین اثر مهارکنندگی مربوط به عصاره ی برگ موسیر در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر بوده است.

توصیه کاربردی/صنعتی: نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می دهد موسیر وحشی، دارای اثر آنتی اکسیدانی نسبتاً مناسبی بوده و برگ آن نسبت به پیاز، از ترکیبات فنولی بیشتری برخوردار است و می تواند رادیکال های آزاد DPPH را به طور قابل ملاحظه ای مهار کند. همچنین نتایج نشان داد، برگ و پیاز موسیر از اثرات ضد میکروبی بالایی برخوردارند و می توانند به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی استفاده شوند.

۱. مقدمه

کنند. فلاونوئیدهای موجود در گیاهان، نقش تغذیه ای مناسبی در رژیم های غذایی انسان دارند. در سال های اخیر تحقیقات زیادی به منظور ارزیابی اثرات ضد میکروبی عصاره های گیاهی صورت گرفته است که حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد باکتری ها می باشد (Ghasemi-Pirbalouti, 2008) ترکیبات ضد میکروبی و با منبع گیاهی دارای قابلیت درمانی بی شماری هستند، و نه تنها در درمان بیماری های عفونی مؤثرند، بلکه به طور همزمان تعداد زیادی از اثرات جانبی را که اغلب با ترکیبات ضد میکروبی همراه هستند کاهش می دهند (Rafieian-Kopaei et al., 2013). از سوی دیگر مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها روز به روز، در حال افزایش است، که این مسأله باعث شده تا، بشر به فکر جایگزین کردن عوامل ضد میکروبی با عوارض جانبی کمتر باشد. بیماری های با منشأ عفونی از جمله شناخته شده ترین بیماری هایی هستند که از گذشته تا به حال مشکلات زیادی برای انسان بوجود آورده اند (Ayfer, 2003). استافیلوکوکوس اورئوس و آسنیتو باکتریومانی از مهمترین عوامل عفونی بیماری زا بوده که شیوع آن ها نیز رو به افزایش است. این پاتوژن ها از عوامل اصلی عفونت های بیمارستانی می باشند که محل اصلی کلونیزاسیون آن ها، در بینی و پوست انسان می باشد و می تواند طیف وسیعی از بیماری ها، شامل پنومونی، استنومیلیت، فولیکولیت و اندوکاردیت را ایجاد کند. استافیلوکوکوس اورئوس یک کوکسی گرم مثبت و فاقد تحرک با تجمع نامنظم می باشد. تخمین زده می شود که ۳۰-۲۵ درصد افراد در جوامع مختلف ناقل استافیلوکوکوس اورئوس هستند. آسنیتو باکتریومانی یک باکتری گرم منفی و هوازی اجباری می باشد، که زندگی در محیط های مرطوب را ترجیح می دهد. عفونت این باکتری به ویژه در بیمارانی که در بخش مراقبت های ویژه (ICU) بیمارستان ها بستری هستند، بسیار خطرناک می باشد (Murry, 1995). گسترش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به گونه های استافیلوکوکوس اورئوس و آسنیتو باکتریومانی یکی از معضلاتی است که امروزه پزشکان با آن سر و کار دارند و روز به روز تعداد آنتی بیوتیک های در دسترس برای درمان این عفونت ها کاهش می یابد (Viedma et al., 2012). بنابراین بهره گیری از گیاهان دارویی، برای دستیابی به ترکیبات جدید دارویی از اهمیت

موسیر با نام علمی *Allium hirtifolium* متعلق به جنس آلیوم و خانواده آلیاسه می باشد. این گیاه بومی کشور ایران است و به صورت خودرو در نواحی مرتفع و نقاط کوهستانی می روید. از نظر پراکندگی جغرافیایی در ایران، در استان های آذربایجان غربی، کردستان، کرمانشاه، همدان، اصفهان، اراک، چهارمحال و بختیاری و یاسوج وجود دارد (Mozaffarian, 2011). موسیر از نظر طبی جزء گیاهان دارویی مهم بوده و قسمت های خوراکی آن برگ ها و پیازهای توپر آن می باشد. این گیاه اشتها آور بوده و در تقویت سیستم گوارش تأثیر دارد (Leelারণraayub et al., 2006). (پیاز) موسیر با داشتن میانگین ۳۰ درصد ماده خشک، یک سبزی بسیار باارزش جهت تولید فراورده های خشک از جمله پودر موسیر می باشد که به عنوان عطر و طعم دهنده در صنایع مورد استفاده قرار می گیرد (Salunkhe, 1998). از پیاز موسیر در درمان رماتیسم، ترمیم زخم های سطحی، سنگ معده و خلط سینه استفاده می شود (Barile et al., 2005). امروزه موضوع رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن به دلیل اثرات نامطلوب بر سیستم های بیولوژیک و سرطان زا بودن، یکی از مباحث مهم و مطرح دانش پزشکی می باشد. رادیکال های آزاد با آسیب رساندن به بیومولکول هایی همچون DNA، پروتئین ها، آنزیم ها و چربی های غشایی می توانند اختلالاتی در بدن ایجاد کنند و سبب توسعه بیماری هایی همچون دیابت، اختلالات عصبی، رماتیسم، بیماری های قلبی، پارکینسون و آلزایمر شوند (Roy, 2011). بنابراین استفاده از گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند، میتوانند باعث حفاظت سلول های بدن از آسیب های اکسیداتیو شوند. تحقیقات نشان می دهد که آنتی اکسیدان های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان های پلاسما (Nasri, 2014 & Rafieian-Kopaei et al., 2014) و کاهش ابتلا به بعضی بیماری ها مانند دیابت (Rafieian-Kopaei et al., 2014)، بیماری های قلبی (Khosravi-Boroujeni et al., 2013) و سگته مغزی می شوند (Rabiei, 2014). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاهان یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان های طبیعی می باشند، که می توانند نقش های مهمی را در خنثی کردن رادیکال های آزاد ایفا

ویژه ای برخوردار می باشد. این مطالعه با هدف تعیین خواص فیتوشیمیایی و اثرات ضد باکتریایی این گیاه انجام پذیرفت.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. تهیه نمونه

گیاه *Allium hirtifolium* از شهرکرد (منطقه ی کوه‌رنگ) در اردیبهشت ماه سال ۹۴ و قبل از گلدهی جمع آوری شد، و پس از شناسایی با کلید های گیاه شناسی و فلور ایران و همچنین تطبیق با نمونه های هرباریومی موجود در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، مورد تأیید قرار گرفت. برگ ها و پیازهای موسیر، به صورت جداگانه تحت شرایط طبیعی و با استفاده از جریان هوا خشک شدند.

۲-۲. عصاره گیری با حلال

عمل عصاره گیری با استفاده از حلال اتانول ۷۰٪ و تغلیظ آن توسط دستگاه Rotary-Evaporator و در دمای ۴۰ درجه ی سانتی گراد انجام شد. تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر و در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT تعیین شد و نتایج بر اساس درصد مهار رادیکال های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه و نمودار آن در مقابل غلظت عصاره ها رسم گردید و IC_{50} محاسبه شد.

میزان جذب شاهد/میزان جذب نمونه - میزان جذب شاهد = درصد مهار DPPH

۲-۳. تعیین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

به منظور اندازه گیری میزان فنل از روش فولین سیکالچو استفاده شد. برای تعیین میزان فلاونول از کلرید آلومینیوم ۲٪ و استات سدیم ۵٪ و جهت تعیین ترکیبات فلاونوئیدی از کلرید آلومینیوم ۲٪ و استات پتاسیم ۵٪ استفاده شد (Rafieian-Kopaie et al., 2016).

۲-۴. بررسی خواص ضد باکتریایی

برای انجام آزمایشات ضد باکتریایی رقت های مختلفی از عصاره ی گیاه تهیه شد. بدین منظور مقدار ۴/۰۴ گرم از هر عصاره

با ترازوی دیجیتالی وزن کرده و با یک میلی لیتر محلول دی متیل سولفوکساید (DMSO) مخلوط شد. سپس با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث، رقت های ۲۰۴۸، ۱۰۲۴، ۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲ و ۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره ها ساخته شد. در این پژوهش از باکتری های استاندارد *Staphylococcus aureus* ATCC25923 و *Acinetobacter baumannii* ATCC19606 (ارئوس /اسنتیوباکتر بومانی) که از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شده بودند، استفاده شد. جهت بررسی اثرات ضد باکتریایی گیاه مورد استفاده، از روش (براث میکرودایلوشن) در پلیت ۹۶ چاهک استریل استفاده شد. در این روش چاهک اول به عنوان کنترل منفی و چاهک دوم به عنوان کنترل مثبت انتخاب شد و پس از اضافه نمودن ۱۱۰ لاندای محیط کشت مولر هینتون براث و عصاره، ۱۴ لاندای باکتری به چاهک های میکروپلیت و رقیق کردن آن ها، نمونه ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و رقیق ترین چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشد معادل MIC قرار داده شد. و برای تعیین MBC همه ی چاهک های فاقد کدورت به صورت جداگانه بر روی محیط بلاد آگار کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و کمترین غلظتی از عصاره که باکتری در آن قادر به رشد نبود به عنوان MBC تعیین شد.

۳. نتایج و بحث

در این تحقیق نتایج مربوط به اندازه گیری مقدار ترکیبات فلاونولی، فلاونوئیدی و میزان فنل عصاره های الکلی برگ و پیاز موسیر در جدول (۱) آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود، بیشترین مقدار ترکیبات فلاونولی، فلاونوئیدی و فنلی در هر گرم عصاره ی خشک مربوط به برگ موسیر با مقادیر ۰/۷۷، ۹/۵۹ و ۱۳۵/۵ می باشد. میزان IC_{50} (غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد مهار رادیکال های آزاد را سبب می شود) برگ و پیاز موسیر در این مطالعه به ترتیب ۳۳۸ و ۷۳۹ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد، و میزان IC_{50} در BHT، ۲۰/۴۷ میکروگرم بر میلی لیتر برآورد شد (جدول ۲). همچنین نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف معنی داری بین نتایج به دست آمده برای عصاره ها و BHT در سطح احتمال ($P < 0.05$) وجود داشت. و عصاره ی برگ

۱۰۲۴ µg/mL	۳۲ µg/mL	آسنیتوباکتریومانی
------------	----------	-------------------

در این مطالعه اثرات مهارکنندگی و کشندگی عصاره برگ و پیاز موسیر بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و آسنیتوباکتریومانی به عنوان مهمترین عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی مورد آزمایش قرار گرفت و مقادیر MIC و MBC تعیین گردید، که نتایج آن در جدول (۳) و (۴) آورده شده است. لازم به ذکر است که نتایج در سه تکرار در غلظت تعیین شده به صورت مشاهده چشمی گزارش گردیده است.

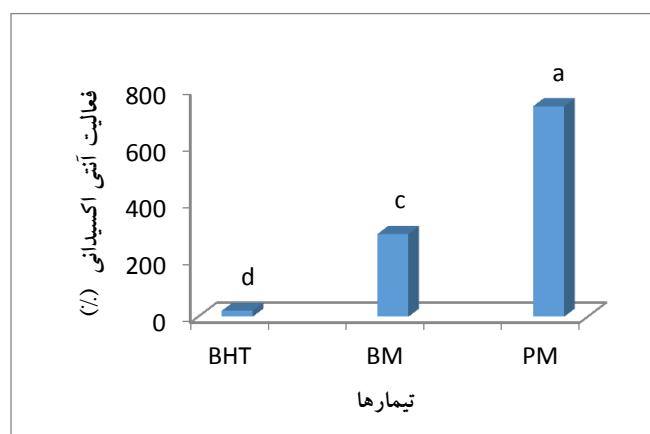
جدول ۴. مقدار حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره الکلی

برگ و پیاز موسیر بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

عصاره الکلی پیاز موسیر	عصاره الکلی برگ موسیر	سویه های میکروبی
۶۴ µg/mL	۶۴ µg/mL	استافیلوکوکوس اورئوس
۲۵۶ µg/mL	۱۰۲۴ µg/mL	آسنیتوباکتریومانی

منابع تغییرات	جمع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره آزمون
تیمار	۷۷۸۵۹۴/۵۸	۲	۳۸۹۲۹۷/۲۹	۳۲۸/۰۱
خطا	۷۱۲۰/۹۹	۶	۱۱۸۶/۸۳	۰/۰۰۰
کل	۷۸۵۷۱۵/۵۷	۸		

جدول ۵. نتایج آزمون ANOVA



و پیاز موسیر نسبت به بوتیل هیدروکسی تولوئن فعالیت آنتی رادیکالی کمتری داشتند و BHT ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره ها داشت (جدول ۳). در بین عصاره ها، برگ موسیر اثر ضد رادیکالی بهتری نسبت به پیاز دارا بود. که این بالاتر بودن فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH را می توان به محتوای فنولی عصاره ها نسبت داد. در بسیاری از پژوهش ها عنوان شده است که بین فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره های گیاهی ارتباط مستقیمی وجود دارد و گیاهانی که میزان ترکیبات فنلی، به خصوص فلاونوئید و فلاونول بالاتری دارند، از قدرت آنتی اکسیدانی بالاتری برخوردارند (Cai et al., 2004). جمشیدی و همکاران (۲۰۱۰) عصاره ی متانولی چند گیاه بومی مازندران را از نظر میزان فلاونوئید و فنول مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که ارتباط مناسبی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات پلی فنلی گیاه وجود دارد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده ی بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی در بعضی از عصاره های گیاهی می باشد. بنابراین خاصیت آنتی اکسیدانی برگ موسیر نسبت به پیاز آن را می توان به میزان بالای فنل در آن نسبت داد.

جدول ۱. ترکیبات فلاونولی، فلاونوئیدی و میزان فنل برگ و پیاز موسیر (میلی گرم بر گرم ماده ی خشک)

عصاره ی الکلی	فلاونول (mg/g)	فلاونوئید (mg/g)	فنل (mg/g)
برگ موسیر	۰/۷۷	۹/۵۹	۱۳۵/۵
پیاز موسیر	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۳۷/۶۰

جدول ۲. میزان IC₅₀ عصاره ی الکلی برگ و پیاز موسیر و BHT

IC ₅₀ (%)	میانگین	انحراف معیار
برگ موسیر	۳۳۸	۶
پیاز موسیر	۷۳۹/۲۸	۵۹
BHT	۲۰/۴۷	

جدول ۳. مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره الکلی برگ و پیاز موسیر بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

سویه های میکروبی	عصاره الکلی برگ موسیر	عصاره الکلی پیاز موسیر
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲۸ µg/mL	۱۲۸ µg/mL

ی حاضر در خصوص اثر مهارکنندگی عصاره ی موسیر بر باکتری های مذکور مطابقت دارد.

۴. نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می دهد موسیر وحشی، دارای اثر آنتی اکسیدانی نسبتا مناسبی بوده و برگ آن نسبت به پیاز، از ترکیبات فنولی بیشتری برخوردار است و می تواند رادیکال های آزاد DPPH را به طور قابل ملاحظه ای مهار کند. همچنین نتایج نشان داد، برگ و پیاز موسیر از اثرات ضد میکروبی بالایی برخوردار اند و می توانند به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی استفاده شوند. با توجه اثبات اثرات دارویی و درمانی این گیاه، لزوم حفظ این گونه ی ارزشمند در معرض انقراض، دارای اهمیت ویژه ای است.

۵. منابع

- Alebrahim-Dehkordy, E., Rafieian-Kopaie, M., Bahmani, M., Abbasi, S. 2016. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content, and antibacterial effects of *Stachys lavandulifolia* Vahl. flowering shoots gathered from Isfahan. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 9(4): 3403-3408.
- Barile, E., Capasso, R., Izzo, A., Lanzotti, V., Sajjadi, S., Zolfaghari, B. 2005. Structure-activity relationships for saponins from *Allium hirtifolium* and *Allium elburzense* and their antispasmodic activity. *Planta Medica*. 71: 1010-1018.
- Cai, Y.Z., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 174, 2157-2184.
- Ghasemi-pirbalouti, A. 2008. Medicinal and Aromatic Plants (recognizing and evaluation of their effects). Published of Islamic Azad University Shahre kord Branch.
- Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S.h., Fath, F., Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and anioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Medicinal Plant*; 9(34) 177-183. [In Persian].

شکل ۱. میزان درصد فعالیت آنتی اکسیدانی برگ و پیاز موسیر در آزمایش تخریب رادیکال های DPPH در مقایسه با BHT (PM) پیاز موسیر، BM برگ موسیر).

نتایج این تحقیق نشان می دهد، گیاه موسیر بر باکتری های مذکور اثر مهارکنندگی و کشندگی قابل قبولی دارد. کمترین غلظت کشندگی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره ی الکلی برگ و پیاز موسیر مشاهده شد. و هر دو عصاره در غلظت ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر اثر باکتری کشی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند. همچنین بیشترین غلظت کشندگی در غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره الکلی برگ موسیر مشاهده شد (جدول ۴). در این پژوهش عصاره الکلی برگ و پیاز موسیر بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *آسنیتوباکتر بومانی* اثر مهارکنندگی نشان دادند و بهترین اثر مربوط به عصاره ی برگ موسیر در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود (جدول ۳). این تفاوت در حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری ها می تواند به دلیل سوبه های مختلف باکتری، نوع محیط کشت مورد استفاده، روش عصاره گیری و نوع حلال، عوامل خارجی و داخلی، ترکیبات خاک، شرایط رشد و فصل برداشت گیاه باشد (Tajkarimi et al., 2010). بنابراین ممکن است عصاره ی یک گیاه دارویی بر یک میکروارگانیسم اثر قابل توجهی داشته باشد، ولی بر میکروارگانیسم دیگری دارای اثر کمتر یا بدون اثر باشد. تحقیقات نشان می دهد که باکتری های گرم منفی دارای حساسیت کمتری نسبت به باکتری های گرم مثبت در مقابل اثر عصاره های گیاهی هستند، که این شرایط ممکن است به دلیل تفاوت موجود در دیواره ی سلولی آن ها باشد (Walter et al., 2011). در تحقیق صورت گرفته توسط Yin و همکارانش در خصوص اثرات ضد باکتریایی گیاه موسیر مشخص شد این گیاه مانع از رشد ۴ گونه باکتری مهم منتقله از طریق مواد غذایی شامل لیستریامونوسایتوزنز، *استافیلوکوکوس اورئوس*، سالمونلا و اشرشیاکلی O:157H:7 گردید. همچنین در مطالعات نامبردگان، عصاره ی موسیر مانع از رشد باکتری مهم و عامل عفونت های بیمارستانی شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسنیتوباکتر بومانی* گردید. که این نتیجه با نتایج مطالعه

- Basalis of Meynert in rat. *Physiology and Pharmacology*. 17(4): 469-77.
- Nasri, H., Rafieian-Kopaei, M. 2014. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *Journal of Research in Medical Sciences*. 19 (1): 82-3.
- Rafieian-Kopaei, M., Shahinfard, N., Rouhi-Boroujeni, H., Gharipour, M., Darvishzadeh-Boroujeni, P. 2014. Effects of *Ferulago angulata* extract on serum lipids and lipid peroxidation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 1-4.
- Rafieian-kopaei, M., Keshvari, M., Asgary, S., Salimi, M., Heidarian, E. 2013. Potential role of a nutraceutical spice (*Allium hirtifolium*) in reduction of atherosclerotic plaques. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 2(2): 23-28.
- Khosravi-Boroujeni, H., Sarrafzadegan, N., Mohammadifard, N., Sajjadi, F., Maghroun, M., Asgari, S., Rafieian-Kopaei, M., Azadbakht, L. 2013. White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *Journal of Health Population Nutrition*. 31(2):252-61.
- Leelarungrayub, N., Rattanapanone, V., Chanarat, N., Gebicki, JM. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition*. 22(3): 74-266.
- Mozaffarian, V. 2011. Medicinal and Aromatic Plants recognize Iran. Publications of farhang moaser. Tehran.
- Roy, P., Amdekar, S., Kumar, A. and Singh, V. 2011. Preliminary study of the antioxidant Properties of flowers and roots of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl) Miers. *BMC Complementary and Alternative Medicine.*, 11: 69-76.
- Tajkarim, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*; 21, 1199-18.
- Viedma, E. Juan, C., Villa, J., Barrado, L., Orellana, M.A., Sanz, F., Otero, J.R., Oliver, A., Chaves, F. 2012. VIM-2-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST175 clone, Spain. *Emerging Infectious Disease*; 18(8):1235-1241.
- Walter, C., Shinwari, Z., Afzali, I., Malik, R. 2011. Antibacterial activity in herbal products used in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*; 43: 155-62.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., et al (editors). 1995. Manual of clinical microbiology. ASM, Washington D.C.
- Yin, M.C., Hsu, P.C., Chang, H. 2003. In Vitro Antioxidant and Antibacterial Activities of shallot and scallion. *Journal of Food Science*; 68: 281.
- Ayfer, D., Turgay, O. 2003. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. *Turkish Journal Biology*. 27: 157-162.
- Rafieian-Kopaei, M., Baradaran, A., Rafieian, M. 2013. Oxidative stress and paradoxical effects of antioxidants. *Journal of Research in Medical Sciences*. 18(7): 628.
- Salunkhe, D.K. and Kadam, S.S. 1998. Handbook of Vegetable science and Technology. Marcel Dekker, Inc. 72PP.
- Rabiei, Z., Rafieian, M. 2014. Effects of *Zizyphus jujuba* extract on motor coordination impairment induced by bilateral electric lesions of the Nucleus